基于叶绿体全基因组的云南樱花品种'红霞'的种系分析

颜成敏,郑伟,徐晓丹* (昆明理工大学 建筑与城市规划学院,昆明 650504)

摘要:云南樱花品种'红霞'('Hongxia')广泛种植于滇中地区,3月开花,半重瓣至 重瓣,粉红色,观赏价值极高。'红霞'曾被认为是红花高盆樱(Cerasus cerasoides var. rubea) 的园艺品种,但分子标记结果却聚在钟花樱(C. campanulata)种系,可见'红霞'的种系 归属存疑,对今后的育种及栽培工作极为不利。为了探索'红霞'的种系问题,该研究以'红 霞'的叶片 DNA 为材料,应用 Illumina 软件对叶绿体基因组特征进行测序,通过 SPAdes 3.13.0, Gapcloser 1.12 和 CPGAVAS2 2.0 软件进行组装、注释,之后使用 MISA 和 Geneious 10.0 软 件对叶绿体基因组特征进行分析;并使用 RAxML 8.0 软件构建 Cerasus 分支系统发育树。 分析了'红霞'在樱属植物的系统关系。结果表明: (1) '红霞'的叶绿体全基因组长度 为 157 832 bp, 鸟嘌呤(GUANINE, G)、胞嘧啶(CYTOSINE, C)含量为 36.73 %,包含一 对反向重复区 (Inverted Repeat Sequence, IR, 26 381 bp), 由小单拷贝区 (Short Single Copy, SSC, 19 120 bp) 和大单拷贝区(Long Single Copy, LSC, 85 950 bp) 分开, 共编码 128 个基 因,包括84个蛋白质编码基因、36个tRNA基因和8个rRNA核糖体基因; (2)通过樱 属 16 个叶绿体全基因组的最大似然法系统发育树系统分析,发现'红霞'与大叶早樱(C. subhirtella)和日本樱花(C. vedoensis)一支聚为姊妹群,而与高盆樱(C. cerasoides)的亲 缘关系较远。结合已报道的细胞核 DNA 研究结果: "'红霞'等品种均聚在钟花樱种系, 而不是高盆樱种系",该研究推测: '红霞'可能不是高盆樱的品种,而有可能是钟花樱和 大叶早樱或日本樱花的杂交品种。该研究结果将为云南樱花品种'红霞'的起源和遗传育种、 高盆樱的品种鉴定与分类等研究提供一定的参考资料。

关键词: 高盆樱, 冬樱花, 重瓣, 品种起源, 系统发育

中图分类号: Q943.2 文献标识码: A 文章编号:

Phylogenetic analysis of Yunnan flowering cheery cultivar 'Hongxia' based on the chloroplast genome

YAN Chengmin, ZHENG Wei, XU Xiaodan*
(Faculty of Architecture and City Planning, Kunming University of Science and Technology,
Kunming 650504, China)

基金项目: 国家自然科学基金(31660228, 32060691) [Supported by National Natural Science Foundation of China.(31660228, 32060691)] 。

第一作者: 颜成敏(1997-),硕士研究生,研究方向为园林技术与植物应用,(E-mail)767244696@qq.com。***通信作者:** 徐晓丹,博士,副教授,研究方向为园林植物资源及利用,(E-mail)125128370@qq.com。

Abstract: 'Hongxia', a Yunnan flowering cheery cultivar blooming in March with semi-double to double pink petals, have been widely cultivated in central Yunnan thanks to its high ornamental value. It was regarded as the cultivar of Cerasus cerasoides var. rubea. However, it were clustered in C. campanulata based on molecular markers. Therefore, the phylogeny of these cultivars are doubtful, which is not conducive to their breeding and cultivation. In order to explore the origin of 'Hongxia', with leaf DNA of 'Hongxia' as materials, we used Illumina sequence, and then assembled, annotated, and analyzed by bioinformatic methods, Analysis of chloroplast genome characteristics was used by MISA and Genious R10. The phylogenetic tree of Cerasus was reconstructed by using RAxML 8.0. The phylogenetic relationship of 'Hongxia' in Cerasus was analyzed.. The results were as follows: (1) The chloroplast genome of 'Hongxia' was 157 832 bp in length, containing a pair of reverse repeat regions (Inverted Repeat Sequence, IR, 26 381 bp), which were separated by a small single copy region (Short Single Copy, SSC, 19 120 bp) and a large single copy region (Long Single Copy, LSC, 85 950 bp). A total of 128 genes were encoded, including 84 protein-coding genes, 36 tRNA genes and 8 rRNA ribosomal genes. The overall Guanine (G) and Cytosine (C) content of genome was 36.73%; (2) Based on the maximum likelihood phylogenetic tree analysis of 16 chloroplast genome of Cerasus, it was found that was formed as sister to C. subhirtella and C. yedoensis, and was far away from C. cerasoides. It has been reported that 'Hongxia' and similar cultivars were clustered in C. campanulata, rather than C. cerasoides based on the nuclear DNA. Therefore, we speculated that may be a hybrid cultivar of C. campanulata and C. subhirtella or C. yedoensis, rather than the cultivar of C. cerasoides. The above results will be useful for studies of the origination and genetic breeding of 'Hongxia', as well as the cultivar identification and classification of C. cerasoides.

Key words: Cerasus cerasoides, winter flowering cheery, double petal, cultivar origination, Phylogenetic analysis

云南樱花品种'红霞'('Hongxia')(张琼, 2013; 王贤荣, 2014)在昆明广泛种植,俗称"西府海棠"(俞德浚, 1986),花期 3 月,半重瓣至重瓣,粉红色,其花序伞形,2~5 朵簇生,盛开之际,满树繁英,一片灿烂,观赏价值极高(图 1)。'红霞'的首次记录是在张琼(2013)的硕士学位论文"樱属观赏品种资源调查及部分种与品种 SSR 分析"中,归属为红花高盆樱(*Cerasus cerasoides* var. *rubea*)种系的新品种:'红霞'红花高盆樱(*C. cerasoides* var. *rubea* 'Hongxia'),论文中还记录了 3 月开花的新品种'碧心'红花高盆樱(*C. cerasoides* var. *rubea* 'Bixin')(图 2)。但是,在《中国樱花图志》(王贤荣, 2014)中,'红霞'、'碧心'却被记录为高盆樱(*C. cerasoides*)的新品种:'红霞'高盆樱(*C. cerasoides* 'Hongxia')、'碧心'高盆樱(*C. cerasoides* 'Bixin')。此外,该书还记录了 3 月开花的高盆樱(*C. cerasoides*) 新品种:'春潮'高盆樱(*C. cerasoides* 'Chunchao')。

高盆樱即高盆樱桃(俞德浚,1986),又名"菁樱桃"、"云南欧李"、"喜马拉雅野樱桃"(Xu et al., 2018),分布于泛喜马拉雅地区,在我国以云南为天然分布中心,属云南省重点保护野生植物。高盆樱一般12月左右开花,花期可达一个月,是唯一在冬季盛开的樱花(张琼,2013; Xu et al., 2018),常被称为"冬樱花"(赵大克和郑丽,2009)。

而有关'红霞'等3月开花的云南樱花重瓣栽培种质,其最早记录是在《中国植物志》中(图2),被认为是高盆樱桃变种——红花高盆樱桃的园艺品种,但品种名不详(俞德浚,1986)。但在2003年的 *Flora of China* (Lu et al., 2003)中,红花高盆樱被归并到高盆樱中,

花期 12 月、3 月。基于形态、花期的较大差异,张琼(2013)提出:是否将红花高盆樱并 入高盆樱,还是将红花高盆樱作为一个种或变种,均有待进一步研究。那么,归属于变种的 '红霞'等3月开花的重瓣品种,能否直接归属于原种高盆樱呢?还是归属其它种系?



图1 "云南樱花"品种'红霞'

Fig. 1 Flowering cheery cultivar Cerasus 'Hongxia' in Yunnan

近年来,核基因组内转录间隔区ITS和叶绿体间隔序列(petA-psbJ、trnH-psbA、rpl32-trnL 和 trnL-trnF)的测序分析结果表明:红花高盆樱与钟花樱(C. campanulata)聚为姊妹群, 而与高盆樱的亲缘关系较远(付涛等,2018)。而且,SSR 分子标记研究表明(张琼,2013; 聂超仁等,2018), '红霞'等 3 月开花的云南樱花重瓣品种聚在钟花樱种系, 而不是高盆 樱种系。这就暗示, '红霞'等品种的种系可能是钟花樱,而不是高盆樱。综上, 等3月开花的重瓣云南樱花品种的种系存疑,对后期的品种分类和遗传育种等研究工作的开 展极为不利。

> 3月开花的云南樱花重燈栽培种质 Double petal cultivated 2 m of Yunnan flowering cherry blossom in March

> > (俞德浚, 1986)

Flora of China将红花高盆樱归并到高盆樱 (C. cerasoides) 中,

徒期12月、3月。 Flora of China merged the C. cerasoides var, rubea into C. cerasoides, Its flowering period is December and March.

> (王贤荣, 2014) (Wang, 2014)

(Lu ct al., 2003)

《中国楼花品种图志》中记录为商益楼的新品种——"红霞"、 "齐湖"、"雪心"。 It is recorded in the An illustrated monograph of cherry cultivars in China as a new variety of C. cerasoides' Hongxia", "Chunchao" and 'Bixin".

(付海等, 2018) (Fu et al., 2018)

網胞核ITS和叶绿体间隔序列的测序分析结果表明:紅花高盆模与 钟花模聚为姊妹群,而与高盆模的亲缘关系较远。 Sequencing analysis of nuclear ITS and chloroplast spacer sequences

showed that C. cerasoides var. rubea and C. campanulata were clustered into sister groups, but were far away from C. cerasoides.

《中国植物志》记录为高盆樱变种红花高盆樱(Cerasus cerasoides var. rubea) 的园艺品种,但品种名亦详。 Flora Reipublicae Popularis Sinicae records that it is a horticultural variety of Cerasus

cerasoides var. rubea which is a variety of C. cerasoides, but the name of the variety

(张琼, 2013) (Zhang, 2013)

《樱属观赏品种资源调查及部分种与品种SSR分析》中记录为红花高盆樱种系的变量物。 《後海族島田中文保姆県及田東市(中国田市SSEZが)、「中に東アは山南田田市新 前新品種、「韓豊」、「夢心」、「蒙在3月下花的資本様(C. campanulata) 挿系 前不足12月 F花的資金複種系。 The new varicties' Hongxia' and 'Bixin' recorded in the Investigation of Cerasus cerusoides var. ruber and varieties are clustered in C. campanulata,

which blooms in March, rather than in December.

(聂超仁等, 2018) (Nie et al., 2018)

荧光SSR分子标记研究结果表明: '红霞'、'碧心'均聚在钟花樱种系。 The results of fluorescent SSR molecular marker research showed that ' Hongxia and ' Bixin' are all clustered in C. campanulata.

图2云南樱花品种'红霞'等品种的种系归属存疑

Fig. 2 The genealogy doubt of flowering cheery cultivar Cerasus 'Hongxia' in Yunnan

与叶绿体间隔序列*petA-psb*J等相比,叶绿体全基因组能够更为全面的揭示物种间的系统关系(王雪芹等,2021)。为此,该研究将以云南樱花品种'红霞'为研究对象,对其开展叶绿体全基因组测序及分析,同时结合在细胞核层面的研究报道,进一步分析'红霞'的的种系归属,以期为'红霞'等3月开花的重瓣樱花品种的起源及演化提供科学依据,为云南樱花的研究和利用提供一定的参考资料。

1 材料与方法

实验材料为云南樱花品种'红霞'的成熟健康叶片,采集地点位于云南省昆明市昆明理工大学呈贡校区(102.856 5°E, 24.852 5°N)。

叶绿体DNA测序流程按照Illumina公司提供的标准方案进行,使用CTAB法(Doyle & Doyle, 1987)提取基因组DNA,经检测合格后,用超声波将DNA片段化,然后对片段化的DNA进行纯化、末端修复、3、端加A、连接测序接头,再用琼脂糖凝胶电泳进行片段大小选择,采用全基因组鸟枪法策略,对DNA样品构建1个350 bp的文库,建好的文库先进行文库质检,质检合格的文库用Illumina NovaSeg进行双末端测序,读长为150 bp。

高通量测序得到的原始图像数据文件经碱基识别 (Base calling) 分析转化为5.1G的原始数据(Raw reads),结果以FASTQ文件格式存储。原始测序数据经过低质量数据过滤得到5G的有效数据(Clean reads)。使用的过滤软件为SOAPnuke V 1.3.0(https://github.com/BGI-flexlab/SOAPnuke),过滤标准如下: 1)去除N碱基含量超过5%的数据(reads);2)去除低质量(质量值小于等于5)碱基数目达到50%的数据(reads);3)去除有接头(adapter)污染的数据(reads)。

使用SPAdes V 3.13.0 (https://github.com/ablab/spades/) 软件进行基因组拼接,将拼接结果与近缘种高盆樱的叶绿体全基因组(MF621234)与给定的核酸序列与核酸数据库中的序列进行比对,基于比对情况并确定候选序列组装结果。连接好的序列,若包含gap(含N序列),则使用Gapcloser(Version: 1.12)进一步补洞,得到最终的拼接结果。利用专门针对叶绿体的注释软件CPGAVAS2 V 2.0 (http://47.96.249.172:16019/analyzer/annotate/)进行基因注释后并绘图。测序后,使用Bankit将注释好的序列提交至NCBI(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/),获得Genbank登录号: OP022428。

采用MISA V 1.0 (http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/misa.html/),使用默认参数对叶绿体进行SSR检测;且对应的各个重复单元(unit size)的最少重复次数分别为1-8 2-4 3-4 4-3 5-3 6-3,如:1-8表示以单核苷酸为重复单位时,其重复数至少为8才可被检测到。

采用Geneious R10(Biomatters, Ltd., New Zealand)软件从NCBI线上数据库下载樱属植物的叶绿体全基因组15个,分析"云南樱花"品种'红霞'的系统位置和亲缘关系。以*Malus prunifolia*(KU851961)(Lu et al., 2003)为外群。所有cp基因组序列均在并在Genious R10中采用MAFFT进行排列(align)。最后在RAxML V 8.0(Stamatakis, 2014)中根据最大似然标准构建了系统发育树,并使用1 000次重复自检(bootstrap)计算各分支支持率。

2 结果与分析

2.1 '红霞'的叶绿体基因组

通过组装,获得了完整的'红霞'叶绿体全基因组,其叶绿体全长为157 832 bp, 包含一对反向重复区 (inverted repeat sequence, IR, 26 381 bp), 由小单拷贝区 (short single copy, SSC, , 19 120 bp) 和大单拷贝区 (long single copy, LSC, 85 950 bp) 间隔开来(表1),基因组的鸟嘌呤 (*GUANINE*, G)、胞嘧啶 (*CYTOSINE*, C)含量为36.73%。

表1 云南樱花品种'红霞'的叶绿体基因组

Table 1 The chloroplast genome of flowering cheery cultivar Cerasus 'Hongxia' in Yunnan

区域 Region	起点 Start (bp)	终点 End (bp)	长度 Length (bp)	GC (%)
全基因组	1	157 832	157 832	36 73
Chloroplast Genome				
大单拷贝区 LSC	1	85 950	85 950	34.61
反向重复区 IRA	85 951	112 331	26 381	42.56
小单拷贝区 SSC	112 332	131 451	19 120	30.20
反向重复区 IRB	131 452	157 832	26 381	42.56

'红霞'叶绿体基因组共编码128个基因(图3),具体包括: ATP合成酶: atpA, atpH, atpE, atpB, atpI, atpF; RNA聚合酶: rpoA, rpoC2, rpoC1, rpoB; 阅读框(ycf): ycf4, ycf1, ycf2, ycf3;转移RNA: trnL-CAA, trnR-ACG, trnC-GCA, trnW-CCA, trnS-CGA, trnD-GUC, trnN-GUU, trnL-UAA, trnK-UUU, trnR-UCU, trnY-GUA, trnH-GUG, trnP-UGG, trnS-GGA, trnM-CAU, trnT-UGU, trnA-UGC, trnL-UAG, trnV-GAC, trnS-UGA, trnE-UUC, trnT-GGU, trnG-GCC, trnQ-UUG, trnF-GAA, trnS-GCU; 蛋白酶: clpP; 还原型辅酶 I(NADH)脱氢酶: ndhJ, ndhK, ndhE, ndhC, ndhF, ndhH, ndhG, ndhD, ndhI, ndhA, ndhB; 核糖体蛋白(LSU): rpl2, rpl33, rpl23, rpl20, rpl22, rpl16, rpl14, rpl36, rpl32; 核糖体RNAs: rrn4.5S, rrn16S, rrn23S, rrn5S; 细胞色素b/f复合物: petB, petL, petN, petG, petD, petA; RubisCO大亚基: rbcL; 成熟酶: matK; 光系统I: psaI, psaA, psaB, psaJ, psaC; 核糖体蛋白(SSU): rps2, rps11, rps3, rps8, rps16, rps19, rps15, rps4, rps12, rps14, rps7, rps18; 光系统II: psbM, psbH, psbI, psbE, psbC, psbJ, psbZ, psbL, psbK, psbA, psbN, psbB, psbT, psbD, psbF; 其他基因: accD, cemA, ccsA。

此外,共检测到'红霞'叶绿体基因组的 SSR 序列 247 个(图 3),包括 163 个复杂重 复序列(绿色短杆)和 84 个简单重复序列(其中两碱基重复序列 73 个,黑色短杆;四碱基重复序列 10 个,黄色短杆;六碱基重复序列 1 个)。

2.2 '红霞'叶绿体基因组的系统分析

通过构建樱属 16个叶绿体全基因组的最大似然法系统发育树(图 4),结果显示:大叶早樱(MN695296)、日本樱花(KP732472)聚为姊妹群(支持率 96%)。'红霞'则同上述姊妹群聚为一支,然后再和蜜腺樱桃(Cerasus discadenia)聚为一支,且都获得了 100%的支持率。最后,大叶早樱+日本樱花+'红霞'+腺蜜樱桃和高盆樱+红毛樱桃(C. rufa)聚为姊妹群,但获得的支持率仅为 37%。由此可见,'红霞'和大叶早樱、日本樱花的亲缘关系最近,而与高盆樱的亲缘关系较远。

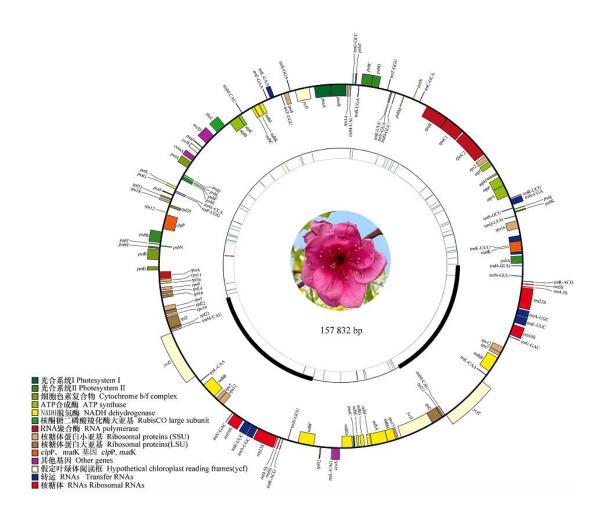


图 3 云南樱花品种'红霞'的叶绿体基因组

Fig. 3 Chloroplast genome of flowering cheery cultivar Cerasus 'Hongxia' in Yunnan

注:叶绿体基因组图谱的内圈为 MISA(v.1.0)识别的微卫星序列,外圈是用 CPGAVAS2(v.2)绘制,显示质体上的基因结构,基因的颜色根据它们的功能分类来区分。

Note: The inner circle of chloroplast genome map is the microsatellite sequence identified by MISA, and the outer circle is drawn by drawgenemap, showing the gene structure on the plastid genome. The color of genes is distinguished according to their functional classification.

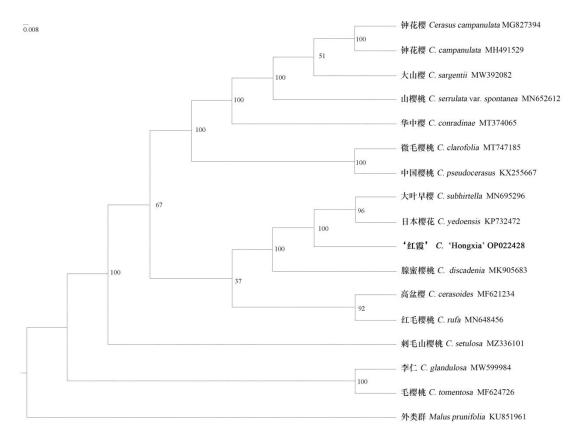


图 4 基于叶绿体全基因组的云南樱花品种'红霞'及近缘种的最大似然法系统发育树 Fig. 4The maxim likelihood phylogenetic tree of Yunnan flowering cheery cultivar *Cerasus* 'Hongxia' and related species based on chloroplast genome

通过叶绿体全基因组的序列比对,发现'红霞'与高盆樱(ID: MF621234)的叶绿体全基因组 DNA 相似率仅为 89.1%,而与近缘种钟花樱叶绿体基因组 DNA(MH491529)的相似率则为 89.4%,均低于'红霞'与大叶早樱叶绿体基因组 DNA(MN695296)的相似率(89.8%)。由此可见,与'红霞'亲缘关系最近的物种并不是高盆樱。

综上,3月开花的云南樱花品种'红霞'可能不是高盆樱(12月开花)的品种。

3 讨论

3.1 基于叶绿体全基因组的'红霞'品种溯源

该研究中,曾被认为是变种红花高盆樱(俞德浚,1986)的品种'红霞',其叶绿体全基因却与高盆樱的亲缘关系较远,这与前人的研究结果"'红霞'等品种均不聚在高盆樱种系"(张琼,2013;付涛等,2018;聂超仁等,2018)一致。从形态特征来看,'红霞'的萼筒宽钟形、萼裂片宽卵状三角形、先端突尖、先叶开放、3月开花等特征,与高盆樱的"萼筒钟形、萼裂片三角形、先端急尖、花叶同放、10-12月开花"有显著的差异(俞德浚,1986;张琼,2013)。实践中,'红霞'等品种的树体、叶片和花朵,常显著大于高盆樱。因此,'红霞'的种系可能并不是高盆樱,两者可能有不同的起源。

在我国的植物标本库中,仅有一份关于红花高盆樱的标本记录(KUN 1312617 (cvh.ac.cn)),采集地点在云南沧源县勐董镇的坝卡山顶,所述的采样时间是 2010 年 3 月 29 日,标本的果实已完全成熟,果实成熟期与'红霞'的花期基本一致。因此,这一标本

的花期可能是在冬季,极有可能是高盆樱原种。尽管如此, '红霞'等3月开花的云南樱花 重瓣品种是否可以直接归属于高盆樱,今后仍可前往上述标本采集点进行实地考察,进一步 从形态和分子等水平展开深入的研究。

同时,该研究中,'红霞'与钟花樱的亲缘关系也较远。而在我国南方野生樱属植物的系统发育分析中,红花高盆樱和同为细齿组的钟花樱等关系较近(付涛等,2018)。上述结果中,'红霞'和钟花樱的亲缘关系差异较大,其主要原因可能是:该研究是基于叶绿体全基因组构建的最大似然法系统发育树,而付涛等(2018)是利用细胞核 ITS+4 段叶绿体组合序列构建的系统发育树,所以结果不完全相同。此外,采样存在的差异,可能导致结果不一样。

从形态特征来看, '红霞'的萼裂片宽卵状三角形、先叶开放、3 月开花等特征,与钟花樱更为接近(俞德浚,1986),这一结果与细胞核层面的分子研究结果: "'红霞'、'碧心'均聚在钟花樱种系"(张琼,2013;付涛等,2018;聂超仁等,2018)一致。而在叶绿体基因组层面,'红霞'和大叶早樱、日本樱花的亲缘关系最为相近。因此该研究推测:'红霞'等3月开花的重瓣品种可能是钟花樱和日本早樱或大叶早樱的杂交品种,甚至可能是杂交多倍化形成的异源多倍体。在大多数植物中,叶绿体基因属于母性遗传。因此,如果'红霞'的品种起源涉及杂交事件的话,杂交母本最有可能是大叶早樱或日本樱花,而杂交父本最有可能是钟花樱。但是,上述推测还需要进一步的细胞学、分子生物学等证据来进行验证。

3.2 高盆樱(冬樱花)的栽培种质亟待整理

《植物名实图考》(吴其濬,1848)中记载: "冬海棠生云南山中,园圃中亦植之,树如山桃,叶似樱桃而长,冬天开桃色花……"由此可见,高盆樱在云南的栽培历史悠久。近30年来,高盆樱在园林中的栽培与日俱增,对提升亚热带地区的冬季景观发挥了非常重要的作用,得到了人们的普遍认可和关注。目前,高盆樱已被引种至全国多地乃至东南亚栽培,可见,高盆樱的国际化已拉开序幕、势在必行。

高盆樱的栽培种质正逐渐增多,如云南万家红园艺有限公司报道的"重瓣冬樱花"(13~15 瓣)和 3 个品种'仙女散花'、'翡翠'、'冬之舞';沈鑫等(2019)报道的高盆樱品种'改良'('Improvement')和'重瓣'('Doublepetal');大理鹤庆县报道的"小阳春";李秀琴(2018)报道的"重瓣冬樱花";安宁市报道的"滇鹤红樱";谢凤云等(2017)报道的"粉冬樱花"、"绿冬樱花"、"重瓣冬樱花"、"新品冬樱花";杨晓东(1992)等报道的"石屏冬樱花"等。这些栽培种质的花瓣有单瓣、重瓣和复瓣;花色有白色、粉红色、玫红色;花萼有绿色、红色,为高盆樱的品种分类提供了多样的性状。

然而,根据《国际栽培植物命名法规》(《International Code of Nomenclature for Cultivated Plants》,ICNCP,第八版)(靳晓白等,2013),部分品种名称的规范性还有待提升,如'改良'、'重瓣'等。双引号标注的"滇鹤红樱"等,也只能视为俗称,如要称为品种,应选用单引号。此外,各栽培群体从本地移栽的优良野生类型越来越多,但这部分栽培种质却没有规范的品种名称。

因此,高盆樱栽培种质在形态、细胞和分子水平的遗传多样性亟待开展系统的研究,分析其杂交或多倍化事件,进而系统整理高盆樱的栽培品种,提出符合 ICNCP 的品种名录和基于种系的分类系统,为高盆樱的遗传育种研究、品种鉴定与分类、国际化应用等提供重要的基础资料。

3.3 钟花樱的分类地位

钟花樱曾被认为是高盆樱分布区偏东、低海拔地区的变种(朱淑霞等, 2019),虽然钟花樱和高盆樱在滇东南周边有一定的重叠分布,但 Flora of China (Lu et al., 2003) 和有关研

究(付涛等,2018)将高盆樱和钟花樱认定成两个种。高盆樱与相似分布区的红毛樱桃(Cerasus rufa)聚为姊妹群,亲缘关系最近,而与钟花樱的亲缘关系较远。从叶绿体全基因组的系统关系分析来看,该研究也认为钟花樱单独成种更为合理,而不是作为高盆樱的变种。

参考文献:

DOYLE JJ, DOYLE JL, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochemistry, 19(18): 11-15.

FU T, WANG ZL, LIN LJ, et al., 2018. Molecular phylogenetic analysis of wild *Cerasus* plants in South China[J]. J Nucl Agric Sci, 32(11): 2126-2134. [付涛, 王志龙, 林乐静, 等, 2018. 我国南方野生樱属植物的分子系统发育分析[J]. 核农学报, 32(11): 2126-2134.]

JIN XB, CHENG FY, ZHANG QX, 2013. International code of nomenclature for cultivated plants: eighth edition[Z]. China Forestry Publishing House. [靳晓白,成仿云,张启翔,2013. 国际栽培植物命名法规: 第 8 版[Z]. 中国林业出版社.]

LI XQ, 2018. Study on the ornamental characteristics of double winter cherry blossom and its application in gardens[J]. Value Eng, 37(17);227-228. [李秀琴, 2018. 重瓣冬樱花的观赏特性及其在园林中的应用研究[J]. 价值工程, 37(17): 227 - 228.]

LU LD, GU CZ, LI CL, et al., 2003. Flora Reipublicae Popularis Sinicae: Rosaceae[M], Oxalidaceae though Aceraceae, 9: 422.

MA HM, MARGARET P, 2005. Genotyping of ornamental flowering cherry germplasm (*Prunus* species) using SSR technology[J]. Hortscience, 40(4): 1003-1003.

NIE CR, ZHANG SS, YU JY, et al., 2018. Genetic diversity and relationship analysis of 54 *Prunus* subgenus *Cerasus* ornamental plants with fluorescent SSR markers detected by capillary electrophoresis[C]. Advances in Ornamental Horticulture of China. Beijing: China Forestry Publishing House: 549-556. [聂超仁,张思思,于静亚,等,2018. SSR 荧光标记毛细管电泳检测法分析 54 个李属樱亚属观赏植物的遗传多样性和亲缘关系[C]. 中国观赏园艺研究进展. 北京:中国林业出版社: 549-556.]

SHEN X, LU G, LIU XH, et al., 2019. Study on growth variation pattern of *Cerasus* cultivars with red flowers in the seedling stage[J]. North Hortic, 43(7): 85-93. [沈鑫, 卢刚, 柳新红, 等, 2019. 樱花红色系品种苗期生长特性及变异规律分析[J]. 北方园艺, 43(7): 85-93.]

STAMATAKIS A, 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies[J]. Bioinformatics. 30(9): 1312-1313.

WANG XQ, SONG WW, XIAO JJ, et al., 2021. Phylogeny of Myrtales and related groups based on chloroplast genome[J]. Guihaia, 41(1): 68-80. [王雪芹,宋卫武,肖建加,等,2021. 基于叶绿体基因组探讨桃金娘目及其近缘类群的系统发育关系[J]. 广西植物,41(1): 68-80.]

WANG XR, 2014. An illustrated monograph of cherry cultivars in China[M]. Beijing: Science Press. [王贤荣, 2014. 中国樱花品种图志[M]. 北京: 科学出版社.]

WU QJ, 1848. An Illustrated Book of Plants[M]. Bei Jing: The Commercial Press. [吴其濬, 1848. 植物名实图考[M]. 北京:商务印书馆.]

XU XD, WEN J, WANG W, et al., 2018. The complete chloroplast genome of the threatened *Prunus cerasoides*, a rare winter blooming cherry in the Himalayan region[J]. Conserv Genet Resour, 10(3): 499-502.

XIE FY, DAI MZ, ZHANG F, et al., 2017. Introduction and cultivation of winter cherry blossom

and its application in gardens[J]. Mod Agric Sci Technol, (3): 140-141. [谢凤云,戴明仲,张飞, 等, 2017. 冬樱花的引种栽培及其在园林中的应用[J]. 现代农业科技,(3): 140 - 141.]

YANG XD, ZHANG WB, LI SF, 1992. Cherry and *Prunus Majtstica* in Yunnan[J]. Yunnan Agricultural Science and Technology, (6): 36-38. [杨晓东,张文炳,李树发,1992. 云南的樱桃和樱花[J]. 云南农业科技,(6): 36-38.]

YU DJ, LI CL, 1986. Flora Reipublicae Popularis Sinicae[M]. Beijing: Science Press: 46-89. [俞德浚, 1986.中国植物志[M]. 北京:科学出版社: 46-89.]

ZHANG Q, 2013. Study on the cultivar resources investigation of flowering cherry (*Cerasus*) in China and analysis of partial species and cultivars using SSR markers[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University. [张琼, 2013. 樱属观赏品种资源调查及部分种与品种 SSR 分析 [D]. 南京: 南京林业大学.]

ZHAO DK, ZHENG L, 2009. Characteristics of *Cerasus cerasoides* (D. Don) Sok and its application in landscape[J]. J Yunnan Agric Univ, 24: 778-782. [赵大克,郑丽,2009. 云南冬樱花及其在园林中的应用[J]. 云南农业大学学报,24(5): 778-782.]

ZHU SX, ZHU H, CHENG L, et al., 2019. Modeling geographical distribution pattern and comparison of ecological characteristics between *Cerasus cerasoides* and *C. campanulata*[J]. Guihaia, 39(10): 1398-1406. [朱淑霞,朱弘,程琳,等,2019. 高盆樱桃与钟花樱桃的地理分布模拟及生态特征比较分析[J]. 广西植物,39(10): 1398-1406.]